

6. Nuccitelli R., Pliquett U., Chen X., Ford W., Swanson R. J., Beebe S.J., Kolb K.J.F., Schoenbach H. Nanosecond pulsed electric fields cause melanomas to self-destruct // *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 2006. Vol. 343. PP. 351-360.
7. Raso J., Barbosa-Canovas G.V. Nonthermal preservation of foods using combined processing techniques // *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 2003. Vol. 43. P. 265.
8. Mosqueda-Melgar J., Elez-Martinez P., Raybaudi-Massilia R.M., Martin-Belloso O. Effects of pulsed electric fields on pathogenic microorganisms of major concern in fluid foods: A review // *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 2008. Vol. 48. PP. 747-759.
9. Ravishankar S., Zhang H., Kempkes M.L. Pulsed electric fields // *Food Sci. Technol. Int.* 2008. Vol. 14. PP. 429-432.

Ирина Вячеславовна Кузнецова,  
аспирант,  
кафедра эмбриологии,  
мл. научный сотрудник,  
институт биологии моря ДВО РАН,  
Анатолий Леонидович Дроздов,  
д-р биол. наук, профессор, гл. научный сотрудник,  
Институт биологии моря ДВО РАН,  
профессор,  
кафедра биоорганической химии и биотехнологии,  
Школа естественных наук  
Дальневосточного федерального университета,  
г. Владивосток,  
e-mail: irihun@mail.ru

**Ж.Е. Кондратенко, В.Т. Костава, Н.П. Бакулева, И.А. Терещенкова, М.В. Зеливянская, И.Г. Лютова**

## Оценка механических характеристик биоткани при модификации поверхности линейно-цепочечным углеродом

### Аннотация

Перспективным подходом для повышения долговечности биологических протезов клапанов сердца является создание на поверхности биологической ткани покрытий, эффективно маскирующих лиганды, промотирующие кальциноз и деградацию биологического материала. В рассматриваемой работе изучалось влияние покрытий из двумерно-упорядоченного линейно-цепочечного углерода (ДУЛЦУ) на механические свойства перикарда телянка, стабилизированного глутаровым альдегидом.

### Введение

Кальциноз и деградация биоткани – два ведущих фактора, отрицательно влияющих на долговечность биологических протезов клапанов сердца [1]. Дополнительным негативным обстоятельством служит инфекционный эндокардит имплантированных клапанов [2].

Одним из подходов для комплексного решения проблемы долговечности биопротезов является создание на поверхности биоткани прочных биосовместимых покрытий, эффективно маскирующих/нейтрализующих лиганды, инициирующие кальциноз и деградацию имплантатов [3], и подавляющих воздействие патогенной микрофлоры.

Для решения этих задач мы использовали наноразмерные покрытия на основе двумерно-упорядоченного линейно-цепочечного углерода (ДУЛЦУ).

Технология нанесения ДУЛЦУ-покрытий методом низкотемпературной плазмы на различные подложки, включая биологические объекты, такие как перикард, успешно разрабатывается на физическом факультете МГУ им. М.В. Ломоносова [4].

Рассматриваемая работа посвящена изучению влияния ДУЛЦУ-покрытий на упруго-прочностные характеристики перикарда телянка – биоткани, широко используемой для изготовления каркасных и бескаркасных биопротезов клапанов сердца. Публикация является первой из серии статей, посвященных доклиническому изучению свойств биопротезов клапанов сердца, изготовленных из ксеноперикарда с ДУЛЦУ-покрытием.

Исследование выполнено в рамках государственного контракта № 12411.1008799.13.056 от 15 мая 2012 года «Разработка технологии и организация производства жестких и гибких протезов клапанов сердца с открытым центральным потоком, объединенных системой миниинвазивной имплантации». Заказчик – Министерство промышленности и торговли Российской Федерации.

### Материалы и методы исследования

**Испытываемая биоткань.** Контрольная биоткань – перикард телянка, забранный при забое животных на скотобойнях

и подвергнутый химической обработке сшивающим агентом – глутаровым альдегидом и детергентом – додецилсульфатом натрия в соответствии с принятым в НЦССХ и утвержденным надлежащим образом технологическим регламентом изготовления ксеноперикардиальных биопротезов [5]. Опытная биоткань представляла собой контрольную биоткань, модифицированную ДУЛЦУ-покрытием по методике, разработанной в МГУ им. М.В. Ломоносова [4].

**Изучение упруго-прочностных свойств биоткани.** Образцы биоткани подвергали испытаниям на одноосевой разрывной машине модели ZWICK (Z2.5/TN1S), ФРГ, при скорости растяжения 50 мм/мин до полного разрушения образцов. Для испытаний использовали полоски перикарда размером 5 x 60...90 мм из контрольной и опытной биоткани. Учитывая анизотропию структурной архитектоники перикарда [6], [7], полоски биоткани вырезали в осевом и радиальном направлениях по отношению к осям перикардиальной сумки.

По результатам испытаний образцов контрольной и опытной биоткани для каждого образца получали деформационные диаграммы в ортогональных осях  $\sigma$ - $\epsilon$  ( $\sigma$  – напряжение растяжения испытываемого образца, МПа;  $\epsilon$  – относительная деформация, выраженная в процентах от исходной длины испытываемого образца). По деформационным диаграммам определяли и рассчитывали для каждого образца: пределы прочности  $\sigma_{пц}$ ; деформации нарушения сплошности  $\epsilon_{нсп}$ ; деформации разрушения  $\epsilon_{max}$ ; касательные модули упругости  $E_{кас}$ . **Контрольная группа** состояла из 28 полосок контрольной биоткани, вырезанных в осевом направлении, и 28 полосок контрольной биоткани, вырезанных в радиальном направлении. **Опытная группа** содержала по 15 полосок опытной биоткани, соответственно вырезанных в осевом и радиальном направлениях.

**Статистическая обработка.** Поскольку во всех испытанных группах распределение числовых значений результатов исследований было близко к нормальному, полученные данные анализировали методами параметрической статистики. Средние числовые значения соответствующих параметров для каждой из изучаемых групп выражали как  $M \pm m$  ( $M$  – арифметическое среднее;  $m$  – среднеквадратичное отклонение). Ста-

статистическую достоверность различий между группами оценивали по критерию Стьюдента. Все вычисления выполняли с помощью прикладного пакета Statistica 8 («StatSoft Inc.», США).

## Результаты и обсуждение

На начальной стадии настоящего исследования было изучено влияние принятой схемы стабилизации ксеноперикарда [5] на механическую анизотропию нативной биоткани. Результаты соответствующих экспериментов, отображенные в виде объединенных деформационных диаграмм образцов из контрольной группы, представлены на *рис. 1*.

Из *рис. 1* следует, что исходная анизотропия нативного перикарда [6], [7] сохраняется после химической стабилизации биоткани в соответствии с технологическим регламентом [5]. Этот результат соответствует литературным данным, согласно которым химическая сшивка белковых макромолекул внеклеточного матрикса сама по себе не изменяет анизотропию перикардиальной ткани [8].

Следующим этапом исследования было изучение влияния ДУЛЦУ-покрытия на биомеханические свойства химически стабилизированного [5] анизотропного перикарда.

Результаты соответствующих экспериментов представлены на *рис. 2* и приведены в *табл. 1*.

Как следует из результатов экспериментов (*рис. 2* и *табл. 1*), биомеханическая анизотропия химически стабилизированной биоткани сохраняется и после модификации ее поверхности покрытием ДУЛЦУ.

В контексте предпринятого исследования критическое значение имело сравнение упруго-прочностных свойств биоткани в контрольной и опытной группах. В *табл. 2* приведены значения упруго-прочностных характеристик биоткани ( $M \pm m$ ) из контрольной и опытной групп.

Сравнительный анализ характеристик показывает, что нанесение ДУЛЦУ-покрытия на химически стабилизированный перикард телянка приводит к следующим изменениям свойств исследуемой биоткани по двум взаимно перпендикулярным направлениям анизотропии:

- пределы прочности  $\sigma_{\text{пч}}$  не изменяются достоверно;
- достоверно увеличивается деформация нарушения сплошности  $\epsilon_{\text{нсп}}$  (в среднем на 18 %);
- достоверно увеличивается деформация разрушения  $\epsilon_{\text{max}}$  (в среднем на 58 %);
- достоверно снижается жесткость  $E_{\text{кас}}$  (в среднем на 23 %).

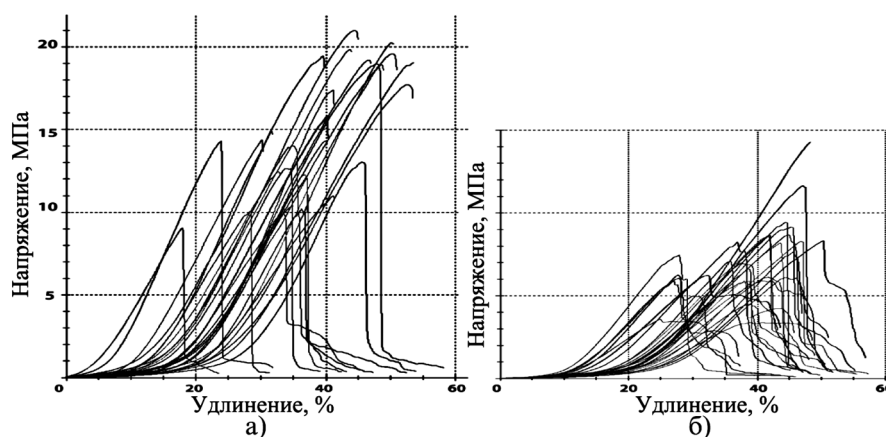


Рис. 1. Деформационные диаграммы контрольного ксеноперикарда по двум осям анизотропии: ось абсцисс – относительное удлинение; ось ординат – напряжение растяжения; а) осевое направление; б) радиальное направление

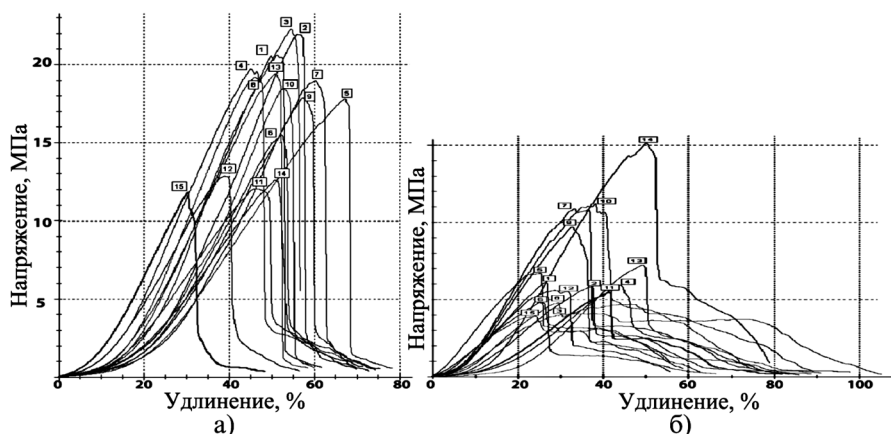


Рис. 2. Деформационные диаграммы ксеноперикарда из опытной группы (контроль + ДУЛЦУ) по двум осям анизотропии: ось абсцисс – относительное удлинение; ось ординат – напряжение растяжения; а) осевое направление; б) радиальное направление

Таблица 1

### Упруго-прочностные характеристики перикарда телянка из опытной группы

Ориентация образцов	Предел прочности, $\sigma_{\text{пч}}$ , МПа	Деформация нарушения сплошности, $\epsilon_{\text{нсп}}$ , %	Деформация разрушения, $\epsilon_{\text{max}}$ , %	Касательный модуль упругости, $E_{\text{кас}}$ , МПа
Осевая ( $n = 15$ )	$17,41 \pm 3,57$	$50,23 \pm 8,90$	$64,95 \pm 10,03$	$54,58 \pm 9,53$
Радиальная ( $n = 15$ )	$7,16 \pm 3,17$	$46,53 \pm 8,48$	$78,77 \pm 15,60$	$28,48 \pm 9,00$
Достоверность различий	$p < 0,0001$	Нет	$p < 0,01$	$p < 0,0001$

Сравнение упруго-прочностных характеристик ксеноперикарда из контрольной и опытной групп

Показатель	Контрольная группа (n = 28)	Опытная группа (n = 15)	Достоверность различий
$\sigma_{\text{пч}}$ – предел прочности осевой, МПа	15,08 ± 3,77	17,41 ± 3,57	Нет
$\sigma_{\text{пч}}$ – предел прочности радиальный, МПа	7,32 ± 2,26	7,16 ± 3,17	Нет
$\epsilon_{\text{нсп}}$ – деформация нарушении сплошности осевая, %	41,20 ± 9,11	50,23 ± 8,90	$p < 0,005$
$\epsilon_{\text{нсп}}$ – деформация нарушении сплошности радиальная, %	41,09 ± 7,48	46,53 ± 8,48	$p < 0,05$
$\epsilon_{\text{тmax}}$ – деформация разрушения осевая, %	42,87 ± 8,48	64,95 ± 10,03	$p < 0,0001$
$\epsilon_{\text{тmax}}$ – деформация разрушения радиальная, %	47,86 ± 5,04	78,77 ± 15,60	$p < 0,0001$
$E_{\text{кас}}$ – касательный модуль упругости осевой, МПа	71,05 ± 7,80	54,58 ± 9,53	$p < 0,0001$
$E_{\text{кас}}$ – касательный модуль упругости радиальный, МПа	36,80 ± 7,91	28,48 ± 9,00	$p < 0,005$

Итак, ДУЛЦУ-покрытие не влияет отрицательно на прочность биоткани, она сохраняет исходную анизотропию. Ткань с модифицированной поверхностью становится менее жесткой и более пластичной. В практическом аспекте эти изменения следует рассматривать как положительные. Действительно, для менее жесткого и более пластичного материала, применяемого при изготовлении створок биопротезов клапанов, при прочих равных условиях, снижен риск накопления усталостных напряжений и развития механической дегенерации биоткани при циклической работе створок биопротезов клапанов сердца.

### Заключение

Химически стабилизированный ксеноперикард, дополнительно модифицированный ДУЛЦУ, может являться перспективным материалом для изготовления биопротезов клапанов с высокой степенью долговечности.

#### Список литературы:

1. *Thiene G., Valente M.* Anticalcification strategies to increase bioprosthetic valve durability // *J. Heart Valve Dis.* 2011. Vol. 20 (1). PP. 37-44.
2. *Starakis I., Mazokopakis E.E.* Prosthetic Valve Endocarditis: Diagnostic Approach and Treatment Options // *Cardiovascular & Haematological Disorders-Drug Targets.* 2009. Vol. 9. PP. 249-260.
3. *Flanagan T.C., Pandit A.* Living artificial heart valve alternatives // *European Cells and Materials.* 2003. Vol. 6. PP. 28-45.
4. *Новиков Н.Д., Бабаев В.Г., Гусева М.Б., Трубин В.В., Маллин Д.А., Лецинский А.М.*  $\text{Sp}^1$  – углерод и медицина. История, успехи и потенциальные возможности // *Нанотехника. Нанотехнологии – медицине.* 2007. № 2 (10). С. 57-64.
5. ТУ 9444-002-01897446-2011 Ксенопротезы клапанов сердца химически стабилизированные, стерильные «БиоЛАБ-КС». – М., 2011.
6. *Radjeman A., Liew S.C., Lim K.O.* Anisotropic elasticity of bovine pericardial tissues // *Jpn. J. Physiol.* 1985. Vol. 35 (5). PP. 831-840.
7. *Zioupos P., Barbenel J.C., Fisher J.* Mechanical and optical anisotropy of bovine pericardium // *Med. Biol. Eng. Comput.* 1992. Vol. 30 (1). PP. 76-82.
8. *Langdon S.E., Chernecky R., Pereira C.A., Abdulla D., Lee J.M.* Biaxial mechanical/structural effects of equibiaxial strain during crosslinking of bovine pericardial xenograft materials // *Biomaterials.* 1999. Vol. 20 (2). PP. 137-153.

*Жаннета Ерофеевна Кондратенко,*  
ст. научный сотрудник лаборатории научных исследований по разработке биопротезов,  
*Вахтанг Тенгизович Костава,*  
канд. биол. наук,  
заведующий НПО медицинской биотехнологии,  
*Наталья Петровна Бакулева,*  
канд. хим. наук,  
зав. лабораторией производства биопротезов,  
*Ирина Александровна Терещенкова,*  
ведущий технолог лаборатории научных исследований по разработке биопротезов,  
*Марина Викторовна Зеливянская,*  
операционная медицинская сестра лаборатории научных исследований по разработке биопротезов,  
*Ирина Геннадиевна Лютова,*  
врач-бактериолог лаборатории производства биопротезов,  
НПО медицинской биотехнологии,  
ФГБНУ «Научный центр сердечно-сосудистой хирургии им. А.Н. Бакулева»,  
г. Москва,  
e-mail: vtkostava@mail.ru

\* \* \* \* \*